



Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor in Sjogren's syndrome-like sialoadenitis

著者	飯塚 麻菜
その他のタイトル	シェーグレン症候群様唾液腺炎におけるM3ムスカリン作働性アセチルコリン受容体に対する自己免疫応答の役割
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2013
報告番号	12102甲第7030号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00122678

氏名（本籍）	飯塚 麻菜（栃木県）			
学位の種類	博士（医学）			
学位記番号	博甲第 7030 号			
学位授与年月	平成 26 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor in Sjögren's syndrome-like sialoadenitis (シェーグレン症候群様唾液腺炎における M3 ムスカリン作働性アセチルコリン受容体に対する自己免疫応答の役割)			
主査	筑波大学教授	医学博士	高橋	智
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	澁谷	和子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	和田	哲郎
副査	筑波大学講師	博士（医学）	栗田	尚樹

論文の内容の要旨

(目的)

シェーグレン症候群 (SS) は慢性唾液腺炎、涙腺炎と乾燥性角結膜炎を主徴とする自己免疫疾患の一つである。病理学的には、唾液腺や涙腺などの導管、腺房周囲に CD4+ T 細胞を主体とする著しいリンパ球浸潤が認められる。腺房の破壊や萎縮により乾燥症状が引き起こされることから、浸潤 T 細胞の病態への関与が示唆されている。現在までに、SS の自己抗原として Ro/SS-A 蛋白や HSP 10/60 蛋白などが同定されてきたが、これらの蛋白は臓器非特異的自己抗原であり、病態との関連も明らかとされていない。そこで、本論文では唾液腺および涙腺の外分泌腺細胞（導管細胞）に高発現している臓器特異的自己抗原である M3 ムスカリン作働性アセチルコリン受容体 (M3R) に着目した。先行研究より、SS 患者末梢血中に M3R に対する自己抗体および M3R 反応性 T 細胞が検出されており、M3R に対する自己免疫応答が SS の病態に関与していることは示唆されているが、その詳細な機序は明らかとなっていない。そこで、M3R に対する自己免疫応答により誘導される病態について解析を行った。

(対象と方法)

マウス M3R の細胞外領域 (N 末、第一、第二、第三細胞外ループ領域) をコードする合成ペプ

チドを作製した。それらのペプチドと完全フロイドアジュバントでエマルジョンを作製し、C57BL/6 マウスと M3R 欠損マウスに免疫を行った。初回免疫 10 日後に追加免疫を行った。追加免疫 10 日後に脾臓を単離し、in vitro で M3R に対する免疫応答について検討した。次に、免疫した M3R^{-/-}マウスの脾細胞を Rag1 欠損 (Rag1^{-/-}) マウスに移入 (M3R^{-/-}→Rag1^{-/-})後、唾液量、抗 M3R 抗体価を測定した。脾細胞移入 45 日後の唾液腺組織切片について、H&E 染色、TUNEL 法、免疫組織学的検討を行った。また、サイトカインの発現や抗原提示細胞についても検討した。さらに、SS の発症における M3R 反応性 T 細胞の役割について検討するため、M3R 抗原を免疫した M3R^{-/-}マウスの脾細胞より分離した CD3⁺ T 細胞のみを Rag1^{-/-} マウスに移入し、唾液腺における組織学的検討を行った。

(結果)

M3R ペプチドを免疫した C57BL/6 マウスと比較して、M3R^{-/-}マウス由来脾細胞において、M3R 抗原に対する IFN- γ および IL-17 の有意に高い産生が認められた。また、M3R^{-/-}→Rag1^{-/-}マウスにおいて、唾液分泌量の低下、血清中の抗 M3R 抗体価の上昇が認められた。唾液腺組織において CD4⁺ T 細胞を主体とする細胞浸潤が認められ、アポトーシス細胞が検出された。病変部において、IFN- γ 、IL-17 の発現および MHC クラス II、CD86 分子の発現が認められた。さらに、CD3⁺ T 細胞のみを移入した Rag1^{-/-}マウスの唾液腺においても、同様に CD4⁺ T 細胞を中心とする細胞浸潤が観察された。

(考察)

本研究結果より、M3R に対する自己免疫応答により SS 類似の唾液腺炎が誘導されることが示された。その発症には、CD4⁺ T 細胞が主要な役割を担っており、IFN- γ および IL-17 などの炎症性サイトカインの関与も示唆された。しかし、CD4⁺ T 細胞のどのサブセットに起因するかについては、明らかとなっていない。今後 IFN- γ ^{-/-}マウスおよび IL-17^{-/-}マウスを用いた更なる解析が必要であると考えられた。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は、M3R に対する T 細胞を中心とした自己免疫応答が、SS の発症に関与している可能性を示し、今後の臨床応用に重要な知見を明らかにしたものとして、高く評価できる。

平成 25 年 12 月 25 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。